



Mahidol University
Faculty of Medical Technology

Final Report

The External Quality Assessment Scheme in Clinical Immunology (EQAI)

Syphilis Serology

Trial: SE-01-24-2

Issue No. 01 Issue Date: 4 July 2024



PTP
No.0033

Provided by:

EQAI: Syphilis serology program
Department of Clinical Microbiology and Applied Technology
Faculty of Medical Technology, Mahidol University
Mobile: 080 982 5570
E-mail: eqai.mahidol@gmail.com

Approved by:

Assoc. Prof. Patchanee Chootong, Ph.D.
Scheme Coordinator



1. รายละเอียดชุดตัวอย่าง

การดำเนินงาน Syphilis Serology Scheme 2024 ในครั้งที่ 2 นี้ โครงการฯ ได้เตรียมสิ่งส่งตรวจซึ่งเป็นซีรัมมนุษย์ที่เตรียมจากพลาสมาผู้บริจาคโลหิตให้กับสมาชิกจำนวน 4 ตัวอย่าง คือ หมายเลข SE 01-24-2-1, SE 01-24-2-2, SE 01-24-2-3 และหมายเลข SE 01-24-2-4 โดยมีการส่งวิเคราะห์เพื่อตรวจหาค่าแอนติบอดีของพลาสมาที่นำมาเตรียมตามแผนดำเนินงานประจำปี ณ ห้องปฏิบัติการรับเหมาช่วง (ศูนย์สุขภาพองค์กรรวมและสถานเวชศาสตร์ชั้นสูง คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล) สำหรับค่ากำหนด (Assigned value) ได้จากค่าห้องของการรายงานผลของห้องปฏิบัติการสมาชิกร้อยละ 80 ในกรณีผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการที่ใช้วิธีการอ่านผลการทดสอบแบบเชิงคุณภาพ ส่วนค่ากำหนด (Assigned value) กรณีผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการที่ใช้วิธีการอ่านผลการทดสอบแบบกึ่งปริมาณจะได้จากค่าห้องของไตเตอร์ 3 ระดับที่ใกล้เคียงกันรวมกันได้มากกว่า 80% และใช้ค่ากลางของไตเตอร์จาก 3 ระดับนั้น ทั้งนี้ค่า Assigned value ของการทดสอบ Non-treponemal test และ Treponemal test ของทั้ง 4 ตัวอย่าง ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1: ค่า assigned value ของชุดตัวอย่าง

Sample	Non treponemal test	treponemal test
SE 01-24-2-1	Non-reactive	Non-reactive
SE 01-24-2-2	Reactive 1:2	Reactive
SE 01-24-2-3	Reactive 1:16	Reactive
SE 01-24-2-4	Reactive 1:2	Reactive

2. สรุปผลการดำเนินงาน

2.1. การเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญ

ในครั้งที่ 2/2024 นี้ มีสมาชิกเข้าร่วมโครงการฯ จำนวน 345 แห่ง มีห้องปฏิบัติการที่ส่งผลกลับมาจำนวน 318 แห่ง (ร้อยละ 92.17) โดยห้องปฏิบัติการที่ส่งผลกลับมานี้ได้ทำการทดสอบทั้ง Non-treponemal test และ Treponemal test หรือเฉพาะการทดสอบเดียว ทั้งนี้รายละเอียดของจำนวนสมาชิกที่ส่งผลกลับและจำนวนสมาชิกที่ทำการทดสอบ Non-treponemal test และ Treponemal test ได้แสดงไว้ในตารางที่ 2



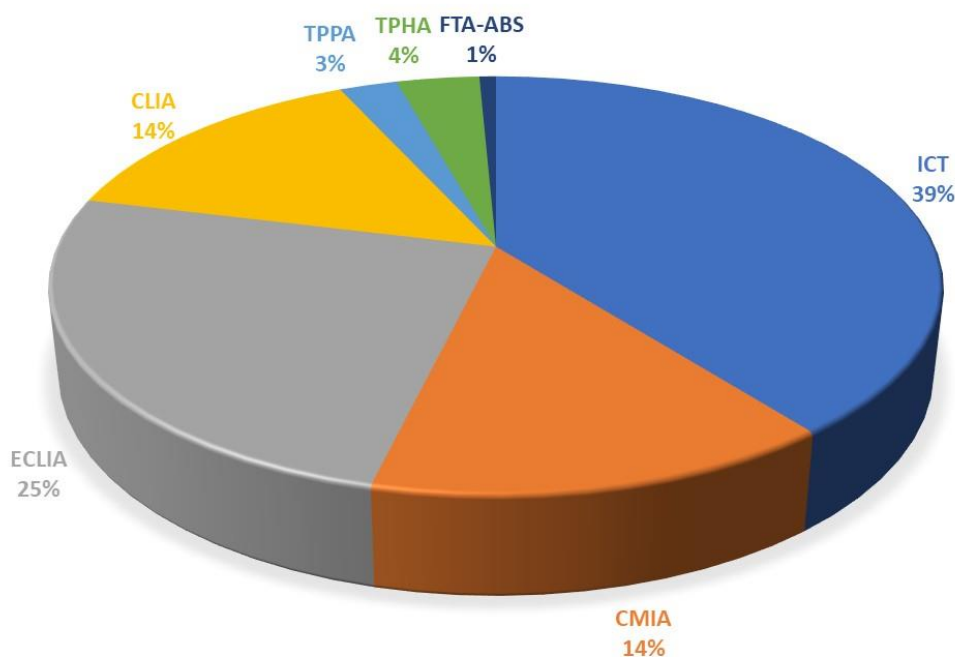
ตารางที่ 2: จำนวนสมาชิกที่ทำการทดสอบ non treponemal test และ treponemal test

Description	Number	Percentage
Laboratory participate in this program	345	100.00
Participant report returned this round	318	92.17
Participant did not return report	27	7.83
Participant performed NTP detection	275	86.48
Participant performed TP detection	276	86.79

2.2. รายละเอียดการใช้ชุดตรวจของสมาชิก

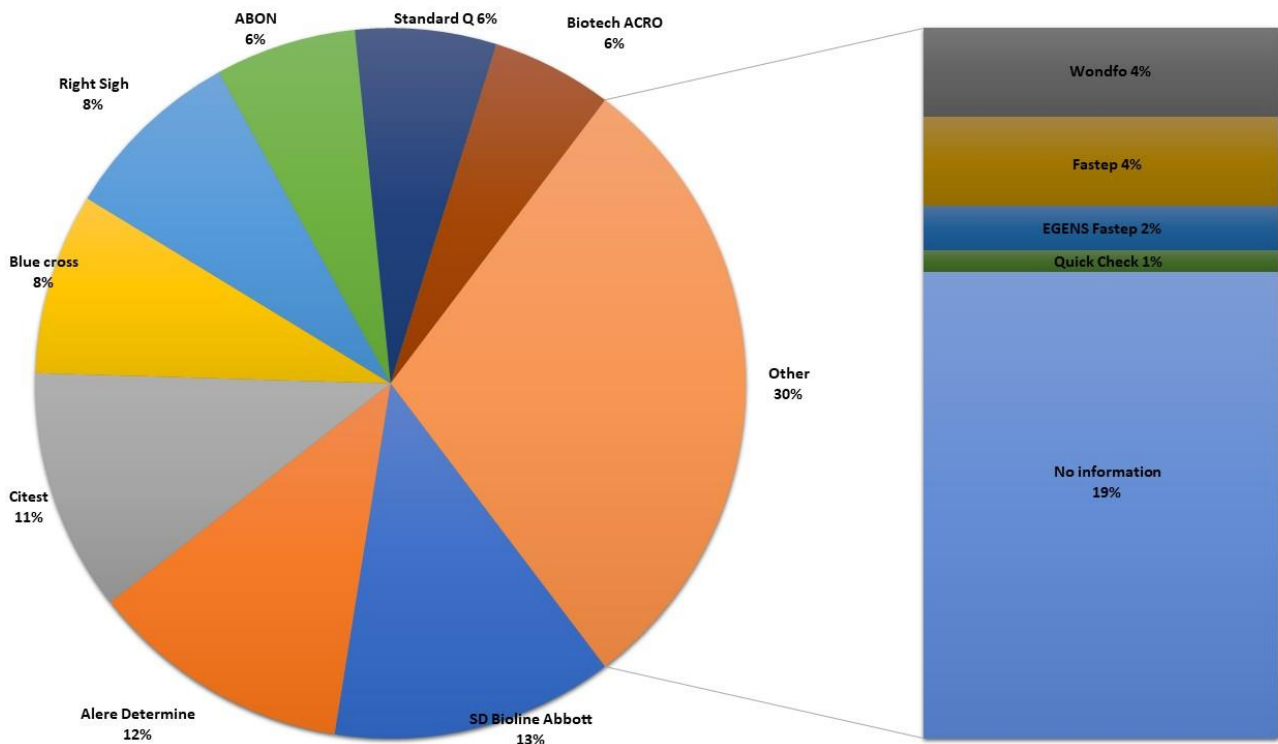
ห้องปฏิบัติการที่ส่งผลกลับมาในครั้งนี้ได้ทำการทดสอบ Non-treponemal test จำนวน 275 แห่ง ซึ่งแยกได้เป็น RPR test จำนวน 273 แห่ง (99.27%) และ VDRL test จำนวน 2 แห่ง (0.73%) ส่วนห้องปฏิบัติการที่ทำการทดสอบ Treponemal test พบว่ามีจำนวน 276 แห่ง โดยการทดสอบที่ใช้ คือ Immunochromatography (ICT) จำนวน 108 แห่ง (39%), CMIA จำนวน 38 แห่ง (14%), ECLIA จำนวน 69 แห่ง (25%), CLIA จำนวน 41 แห่ง (14%), TPHA จำนวน 10 แห่ง (4%), TPPA จำนวน 8 แห่ง (3%) และ FTA-ABS จำนวน 2 แห่ง (1%) ทั้งนี้อัตราการใช้ชุดตรวจหลักการต่างๆ สำหรับการทดสอบ treponemal test ได้แสดงไว้ในแผนภูมิที่ 1

แผนภูมิที่ 1: สัดส่วนห้องปฏิบัติการที่ใช้หลักการต่างๆในการทดสอบ Treponemal test





แผนภูมิที่ 2: อัตราการใช้ชุดตรวจของการทดสอบ Immunochromatography



3. รายละเอียดผลการทดสอบของสมาชิก

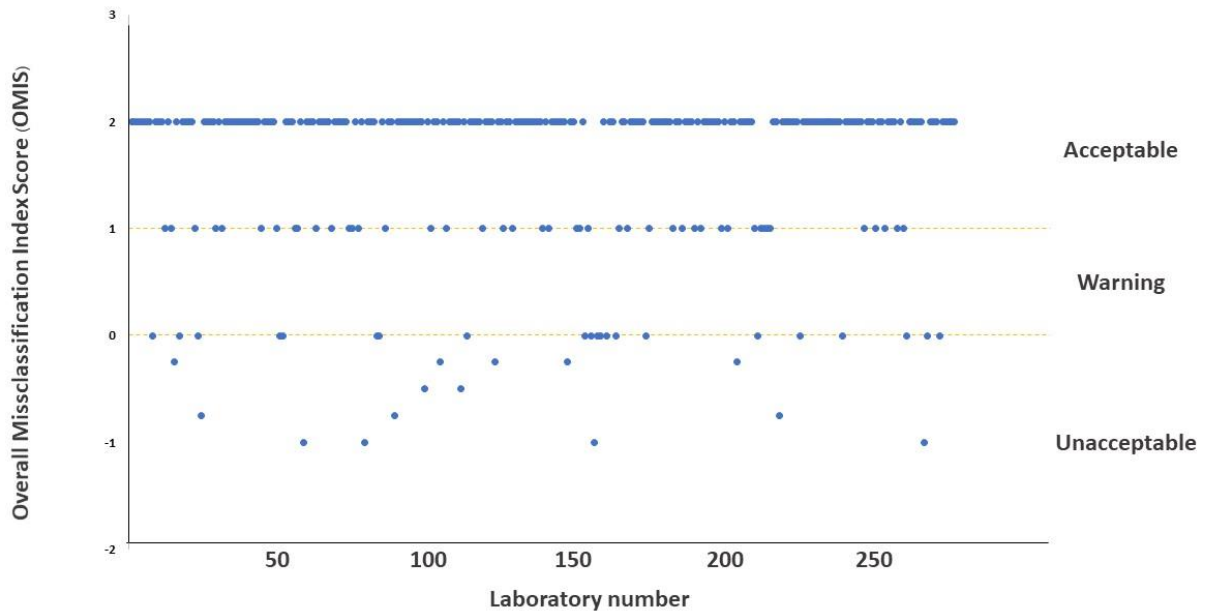
3.1 ผลการประเมินการทดสอบของห้องปฏิบัติการ

สำหรับการประเมินผล Non-treponemal test ในครั้งที่ 2 นี้ พบว่าจากจำนวนสมาชิกส่งผลกลับมาทั้งหมดจำนวน 275 ห้องปฏิบัติการ มีสมาชิกร้อยละ 70.55 (จำนวน 194 ห้องปฏิบัติการ) ได้รับการประเมินผลในระดับ Acceptable มีสมาชิกร้อยละ 16.00 (จำนวน 44 ห้องปฏิบัติการ) ได้รับการประเมินผลในระดับ Warning และมีสมาชิกร้อยละ 12.72 (จำนวน 35 ห้องปฏิบัติการ) ได้รับการประเมินผลในระดับ Unacceptable นอกจากนี้พบว่ามีสมาชิกร้อยละ 0.73 (จำนวน 2 ห้องปฏิบัติการ) ที่ไม่ได้รับการประเมินผลเนื่องจากใช้ชุดตรวจที่แตกต่างจากกลุ่มสมาชิกซึ่งมีจำนวนน้อยกว่า 5 ห้องปฏิบัติการ ในส่วนของการประเมินผลการทดสอบ Treponemal test นั้น พบว่ามีจำนวนสมาชิกส่งผลกลับมาทั้งหมดจำนวน 276 ห้องปฏิบัติการ มีสมาชิกร้อยละ 96.02 (จำนวน 265 ห้องปฏิบัติการ) ได้รับการประเมินผลในระดับ Acceptable สมาชิกร้อยละ 2.54 (จำนวน 7 ห้องปฏิบัติการ) ได้รับการประเมินผลในระดับ Warning มีสมาชิกร้อยละ 0.72 (จำนวน 2 ห้องปฏิบัติการ) ได้รับการประเมินผลในระดับ Unacceptable และพบว่ามีสมาชิกร้อยละ 0.72 (จำนวน 2 ห้องปฏิบัติการ) ที่ไม่ได้รับการประเมินผลเนื่องจากใช้ชุดตรวจที่แตกต่างจากกลุ่มสมาชิกซึ่งมีจำนวนน้อยกว่า 5 ห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้ผลการประเมินของการทดสอบ Non-treponemal และ Treponemal test จากห้องปฏิบัติการทั้งหมดที่ส่งผลกลับมาได้แสดงไว้ในค่า Overall Missclassification Index Score (OMIS) ดังแสดงในแผนภูมิที่ 3

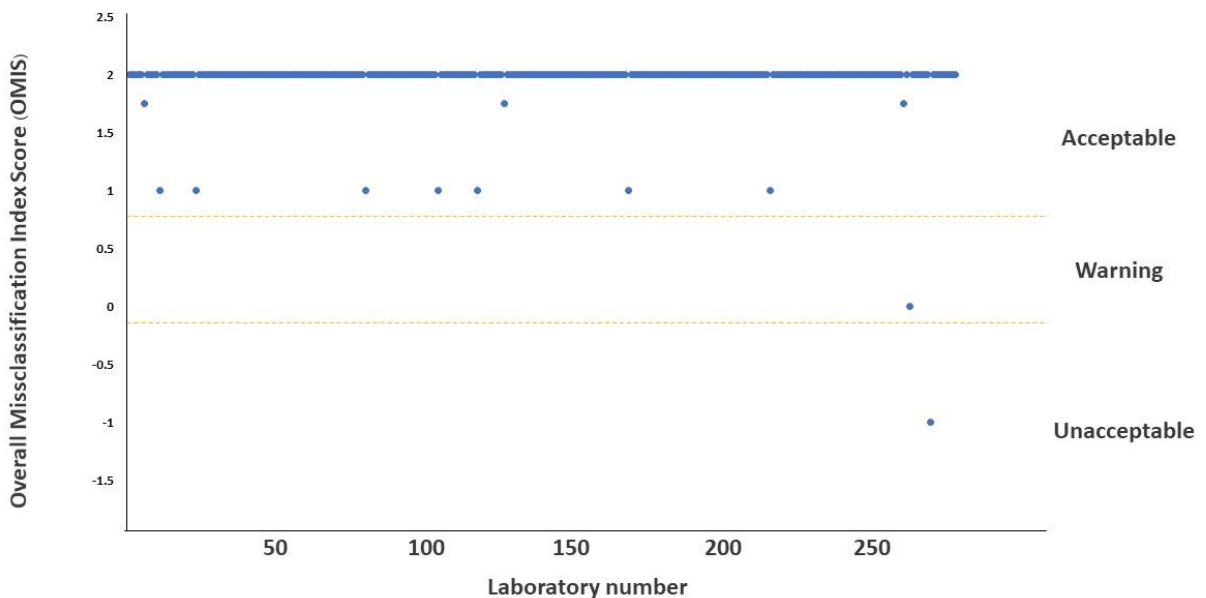


แผนภูมิที่ 3: ค่า OMIS score ของการทดสอบ Non-treponemal และ Treponemal test

A. การทดสอบ Non-treponemal Test



B. การทดสอบ Treponemal Test





3.2. ความเที่ยงของการทดสอบ (Precision)

ในครั้งที่ 2/2024 นี้ทางโครงการฯ ได้ทดสอบความเที่ยงของการทดสอบโดยส่งตัวอย่างซ้ำ (Duplicated samples) คือ ตัวอย่างหมายเลข SE 01-24-2-2 และหมายเลข SE 01-24-2-4 ในการทดสอบแบบ Treponemal test พบว่าสมาชิกส่วนใหญ่ร้อยละ 97.46 (จำนวน 269 ห้องปฏิบัติการ) มีความแม่นยำของการรายงานผลการทดสอบ มีเพียงสมาชิกร้อยละ 2.54 (จำนวน 7 ห้องปฏิบัติการ) มีความแปรปรวนของการรายงานผลการทดสอบ สำหรับการทดสอบ Non-treponemal test นั้น พบว่าสมาชิกร้อยละ 73.82 (จำนวน 203 ห้องปฏิบัติการ) รายงานผลแม่นยำ แต่มีสมาชิกร้อยละ 26.18 (จำนวน 72 ห้องปฏิบัติการ) ที่มีความแปรปรวนของการรายงานผล โดยมีสมาชิกร้อยละ 23.64 (จำนวน 65 ห้องปฏิบัติการ) รายงานผลเบี่ยงเบน 1 ไตเตอร์ มีสมาชิกร้อยละ 2.18 (จำนวน 6 ห้องปฏิบัติการ) รายงานผลเบี่ยงเบน 2 ไตเตอร์ มีสมาชิกร้อยละ 0.36 (จำนวน 1 ห้องปฏิบัติการ) รายงานผลเบี่ยงเบน ≥ 3 ไตเตอร์ รายละเอียดแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3: ผลการทดสอบความเที่ยง (Precision) ของห้องปฏิบัติการสมาชิกในการทดสอบ Non-treponemal test

Difference Titer	Number	Percentage
0	203	73.82
1	65	23.64
2	6	2.18
≥ 3	1	0.36
Total	275	100

4. สรุปและวิจารณ์

ในครั้งที่ 2/2024 นี้ มีจำนวนสมาชิกห้องปฏิบัติการที่รายงานผลตอบกลับทันตามเวลาที่กำหนดจำนวน 318 ห้องปฏิบัติการ (ร้อยละ 92.17) โดยมีสมาชิกจำนวน 27 ห้องปฏิบัติการ (ร้อยละ 7.83) ไม่รายงานผลกลับซึ่งห้องปฏิบัติการเหล่านี้จะเสียโอกาสในการประเมินระบบคุณภาพของการตรวจทางห้องปฏิบัติการสำหรับ Syphilis serology และอาจจะส่งผลกระทบต่อมาตรฐานห้องปฏิบัติการ โดยหากสมาชิกส่งผลกลับมาน้อยกว่า 3 ครั้ง/ปีทางโครงการฯ จะไม่มอบประกาศนียบัตรเพื่อแสดงการเข้าร่วม ดังนั้นจึงขอความร่วมมือสมาชิกให้ส่งผลภายในเวลาที่กำหนดด้วย

จากผลการทดสอบแบบ Non-treponemal test ในตัวอย่าง SE 01-24-2-1 และ SE 01-24-2-4 ที่มีค่า Assigned value ไตเตอร์ 1:2 พบว่ามีสมาชิกจำนวน 21 ห้องปฏิบัติการรายงานเบี่ยงเบนจากค่ากำหนด โดยมีสมาชิกจำนวน 16 ห้องปฏิบัติการรายงานผลเป็น Non-reactive และมีสมาชิกจำนวน 5-6 ห้องปฏิบัติการรายงานผลไตเตอร์มากกว่า 1:4 สำหรับตัวอย่าง SE 01-24-2-3 มีค่า Assigned value ไตเตอร์ 1:16 พบว่ามีสมาชิกจำนวน 53 ห้องปฏิบัติการรายงานเบี่ยงเบนจากค่ากำหนด โดยมีจำนวน 38 ห้องปฏิบัติการ (คิดเป็นร้อยละ 14) รายงานระดับไตเตอร์สูงกว่า 1:16 ทาง



โครงการฯ จึงแนะนำห้องปฏิบัติการให้ทบทวนขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์การทดสอบแบบ Semi-quantitative test และการอ่านผลการทดสอบเพื่อรายงานระดับไตเตอร์ของแอนติบอดีได้ถูกต้อง รวมทั้งการควบคุมคุณภาพภายใน (Internal Quality Control: IQC) ซึ่งจะต้องมีวัสดุควบคุมคุณภาพ คือ Reactive control และ Non-reactive control ด้วยเสมอในการทดสอบเพื่อการทวนสอบกระบวนการวิเคราะห์และได้ผลที่แม่นยำขึ้น

สำหรับผลการทดสอบแบบ Treponemal test ในตัวอย่าง SE 01-24-2-3 ที่มีค่าไตเตอร์ 1:16 พบว่าสมาชิกจำนวน 2 ห้องปฏิบัติการ (IS20241219 และ IS20243001) ใช้ชุดทดสอบ ICT รายงานผลเบี่ยงเบนจากค่ากำหนดโดยรายงานผลตัวอย่างนี้เป็น Weakly reactive และมีสมาชิก 1 ห้องปฏิบัติการ (IS20243078) ใช้หลักการทดสอบ ECLIA รายงานผลเบี่ยงเบนจากค่ากำหนดโดยรายงานผลตัวอย่างนี้เป็น Non-reactive และยังมีสมาชิกจำนวน 3 ห้องปฏิบัติการ (IS20240089, IS20241219, IS20243001) รายงานผล Weakly reactive โดยใช้ชุดตรวจของการทดสอบ Immunochromatography ดังนั้นทางโครงการฯ แนะนำห้องปฏิบัติการให้อ่านเอกสารประกอบนํ้ายาชุดทดสอบ (Package Insert) ของบริษัทนั้น ๆ อย่างละเอียดซึ่งจะระบุการรายงานผลการทดสอบ (Interpretation) เพื่อการรายงานผลการทดสอบ Treponemal test ได้อย่างถูกต้อง

นอกจากนี้ทางโครงการฯ พบว่าบางห้องปฏิบัติการยังมีความเข้าใจคลาดเคลื่อนในการรายงานผลการทดสอบในประเด็นต่างๆดังนี้

1. ในการทดสอบ RPR มีห้องปฏิบัติการจำนวน 10 แห่ง (IS20240180, IS20240366, IS20240689, IS20240916, IS20240967, IS20240991, IS20241035, IS20241211, IS20241539 และ IS20242226) รายงานผล Reactive สำหรับการทดสอบแบบ Qualitative test แต่ไม่รายงานผลระดับไตเตอร์ของการทดสอบแบบ Semi-quantitative test ซึ่งการรายงานผลของการทดสอบ Non-treponemal test นั้น หากผลการทดสอบแบบ Qualitative ให้ผล Reactive จะต้องทำการทดสอบแบบ Semi-quantitative test เพื่อรายงานระดับไตเตอร์ของแอนติบอดีด้วยเสมอเพราะผลการทดสอบนี้สามารถใช้ติดตามการรักษาโรคซิฟิลิสได้

2. นอกจากนี้ทางโครงการฯ พบว่าบางห้องปฏิบัติการยังมีความเข้าใจคลาดเคลื่อนในการบันทึกหลักการทดสอบ เช่น การใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Vitros ต้องบันทึกเป็นหลักการ Chemiluminescence immunoassay (CLIA) และพบการบันทึกหลักการทดสอบจาก Immunochromatography test (ICT) เป็นหลักการ Treponema Pallidum Hemagglutination Assay (TPHA) ซึ่งไม่ตรงกับหลักการทดสอบที่ระบุในเอกสารประกอบนํ้ายาชุดทดสอบ (Package Insert) ของบริษัทนั้น ๆ ซึ่งจะระบุหลักการทดสอบ เพื่อให้การวิเคราะห์ข้อมูลหลักการทดสอบ Treponemal test เป็นไปได้อย่างถูกต้องมากขึ้น



5. รายงานที่ปรึกษาทางวิชาการ ที่ปรึกษาทางสถิติ และผู้ดำเนินโครงการฯ

5.1 รายงานที่ปรึกษาทางวิชาการ:

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชนินยา ลี้ปิยะสกุลชัย คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

5.2 รายงานที่ปรึกษาทางสถิติ:

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประสงค์ แคน้ำ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

5.3 รายงานผู้ดำเนินโครงการ:

หัวหน้าโครงการฯ: รองศาสตราจารย์ ดร.พัชนี ชูทอง

ผู้จัดการวิชาการ: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดลพร ริยะป่า

ผู้ดำเนินโครงการฯ: ทนพ. สุธี วรรณช



ภาคผนวก

ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง (Homogeneity test)

ตัวอย่างที่ถูกแบ่งบรรจุลงในขวดเพื่อจัดส่งถึงสมาชิกถูกนำไปตรวจสอบความเป็นเนื้อเดียวโดยการสุ่มเลือกตัวอย่างด้วยโปรแกรมเอ็กซ์เซลจำนวน 10 ขวด/ตัวอย่าง เพื่อตรวจหาค่าแอนติบอดี ณ ห้องปฏิบัติการรับเหมาช่วง (ศูนย์สุขภาพองค์กรวมและสถานเวชศาสตร์ชั้นสูตร คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล)

จากผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างดังแสดงในตารางที่ 4 พบว่าในการทดสอบทั้ง Treponemal test และ Non-treponemal test ได้ผลการทดสอบที่เหมือนกันทั้ง 10 ตัวอย่าง (ร้อยละ 100) แสดงว่าตัวอย่างหมายเลข SE 01-23-2-1, SE 01-23-2-2, SE 01-23-2-3 และ SE 01-23-2-4 มีความเป็นเนื้อเดียวกันเพียงพอ

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง

ขวดที่	Non-Treponemal Test				Treponemal Test			
	SE-01-24-2-				SE-01-24-2-			
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	NR	1:4	1:32	1:4	NR	R	R	R
2	NR	1:4	1:32	1:4	NR	R	R	R
3	NR	1:4	1:32	1:4	NR	R	R	R
4	NR	1:4	1:32	1:4	NR	R	R	R
5	NR	1:4	1:32	1:4	NR	R	R	R
6	NR	1:4	1:32	1:4	NR	R	R	R
7	NR	1:4	1:32	1:4	NR	R	R	R
8	NR	1:4	1:32	1:4	NR	R	R	R
9	NR	1:4	1:32	1:4	NR	R	R	R
10	NR	1:4	1:32	1:4	NR	R	R	R

ผลการทดสอบความคงตัวของตัวอย่าง (Stability test)

ตัวอย่างที่ถูกแบ่งบรรจุลงในขวดเพื่อจัดส่งสมาชิก ถูกสุ่มเลือกด้วยโปรแกรมเอ็กซ์เซลจำนวน 6 ขวด/ตัวอย่าง เพื่อดำเนินการทดสอบความคงตัวของตัวอย่างจากการขนส่งตัวอย่างทดสอบจำนวน 4 ขวดและจัดเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจำนวน 2 ขวด ซึ่งตัวอย่างจะถูกส่งเพื่อตรวจหาค่าแอนติบอดี ณ ห้องปฏิบัติการรับเหมาช่วง (ศูนย์สุขภาพองค์กรวมและสถานเวชศาสตร์ชั้นสูตร คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล) ผลการทดสอบความคงตัวของตัวอย่างได้แสดง



ไว้ในตารางที่ 5 และ 6 จากผลการทดสอบครั้งนี้พบว่าในการทดสอบ Non-treponemal test และ Treponemal test ได้ค่าถูกต้องตรงกับค่าเป้าหมาย (ร้อยละ 100) แสดงว่าตัวอย่างหมายเลข SE 01-24-2-1, SE 01-24-2-2, SE 01-24-2-3 และ SE 01-24-2-4 มีความคงตัวเพียงพอ

การทดสอบความคงตัวจากการขนส่งตัวอย่างทดสอบ

ตารางที่ 5 การทดสอบความคงตัวจากการขนส่งตัวอย่างทดสอบ

ขวดที่	Non-Treponemal Test				Treponemal Test			
	SE-01-24-2-				SE-01-24-2-			
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	NR	1:2	1:32	1:2	NR	R	R	R
2	NR	1:2	1:32	1:2	NR	R	R	R
3	NR	1:2	1:32	1:2	NR	R	R	R
4	NR	1:2	1:32	1:2	NR	R	R	R

การทดสอบความคงตัวจากการจัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตัวอย่างที่ได้จากการสุ่มจำนวนตัวอย่างละ 2 ขวด ซึ่งถูกจัดเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส หลังสิ้นสุดรับรายงานผลจากสมาชิก ได้นำตัวอย่างมาตรวจหาค่าแอนติบอดี โดยค่าความคงตัวจากการจัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสของตัวอย่างแสดงไว้ในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 การทดสอบความคงตัวจากการจัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ขวดที่	Non-Treponemal Test				Treponemal Test			
	SE-01-24-2-				SE-01-24-2-			
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	NR	1:2	1:32	1:2	NR	R	R	R
2	NR	1:2	1:32	1:2	NR	R	R	R